

ブタ舌動脈血管平滑筋におけるアドレナリン収縮に対する リドカインの抑制機序の検討

畠山 忠臣, 佐藤 健一

岩手医科大学歯学部歯科麻酔学講座

(主任: 城 茂治 教授)

(受付: 2002年10月24日)

(受理: 2002年11月19日)

Abstract : The purpose of this study was to clarify the effects and mechanisms of lidocaine ($1.0 \times 10^{-3}M$) on changes in contraction of the smooth muscle induced by voltage dependent Ca^{2+} channel (VDCC) stimulator, KCl (90mM), and receptor activated Ca^{2+} channel (RACC) agonist, adrenaline ($2 \times 10^{-6}M$), in porcine lingual arteries.

The isometric tension and intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) by the fura-2 microfluorometric methods were measured simultaneously, and from them we tried to deduce the depressing mechanism of lidocaine ($1.0 \times 10^{-3}M$) on the contraction.

The results were obtained as follows:

- (1) Lidocaine depressed the increase of contraction and $[Ca^{2+}]_i$ induced by KCl and adrenaline in a concentration-dependent manner.
- (2) Lidocaine depressed the increase of contraction and $[Ca^{2+}]_i$ induced by adrenaline in normal physiological salt solution after depletion of the intracellular Ca^{2+} -sensitive Ca^{2+} store.
- (3) Lidocaine depressed the increase of contraction and $[Ca^{2+}]_i$ induced by adrenaline in Ca^{2+} -free physiological salt solution.
- (4) Lidocaine had no effect on Ca^{2+} induced Ca^{2+} release(CICR) by caffeine.

These results suggest the following conclusions as follows,

1. Lidocaine depresses influx of Ca^{2+} through VDCC and RACC.
2. Lidocaine inhibits the increase of $[Ca^{2+}]_i$ through IP_3 processes.
3. Lidocaine has no effect on CICR.

Key words : porcine lingual artery, lidocaine, adrenaline, tension, intracellular Ca^{2+} concentration

緒 言

現在の歯科医療において無痛治療は重大な課題であり、この点からも局所麻酔は不可欠である。中でも浸潤麻酔法が頻用されているが、その際に用いられる局所麻酔薬として塩酸リドカイン(以下リドカイン)が最も広く用いられて

いる。しかし、リドカインの臨床応用濃度では血管拡張作用があると言われており¹⁾、血流の豊富な口腔粘膜での応用により速やかに血液中に吸収され、局所麻酔作用の減弱や短縮、局所麻酔薬中毒などを招く恐れがある。このため通常、歯科用局所麻酔薬には血液への迅速な吸収を抑制し、局所麻酔作用の増強、延長、局所麻

Effects of lidocaine on changes in intracellular Ca^{2+} concentration and tension of the smooth muscle induced by adrenaline in porcine lingual arteries

Tadaomi HATAKEYAMA, Ken-ichi SATOH

Department of Dental Anesthesiology, School of Dentistry, Iwate Medical University

1-3-27 Chuo-dori, Morioka, Iwate 020-8505, Japan

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (〒020-8505)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 27 : 219-229, 2002

酔薬中毒の予防などを目的として血管収縮薬であるアドレナリン（エピネフリン）が添加されている¹⁾。

これまで著者らは、アドレナリンが口腔内主要動脈の一つである舌動脈枝の血管平滑筋の等尺性収縮に及ぼす作用を検討し、同時に細胞内 Ca^{2+} 濃度（以下 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ）を測定して、その作用機序についても検討した²⁾。その結果、アドレナリンは舌動脈血管平滑筋を濃度依存性に収縮させ、その収縮を引き起こす $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の増加は細胞内貯蔵部位からの放出と、さらにそれに続く L 型カルシウムチャネル以外からの細胞外 Ca^{2+} の細胞内流入によることを報告した。また、アドレナリンは Ca^{2+} に対する収縮蛋白の感受性を増大させる可能性も示唆された。このようにアドレナリンのような受容体刺激では収縮蛋白の Ca^{2+} 感受性が増大し、収縮が増強する³⁻⁶⁾などの修飾は受けるものの、一般に平滑筋の収縮の程度は、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化で調節されるとされている。

そこで、本研究はリドカインの舌動脈平滑筋への直接作用を調べることを目的に、これまでの研究成果をもとにリドカインのアドレナリン刺激による血管平滑筋収縮に及ぼす影響を調べ、さらに $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化を同時測定し、これらを手がかりにリドカインの作用機序についても検討した。

材 料 と 方 法

1. 材料

屠殺ブタの舌から直径 1 - 2 mm の舌動脈を摘出し、周囲組織とともに外膜を剥離除去した。さらに、長さ 2 - 3 mm に切断した後、血管内皮を剥離し、反転して内膜側を外側にした舌動脈平滑筋の輪状標本を作成した。

2. 蛍光カルシウム指示薬 Fura-2 / AM の負荷

Fura-2 / AM（同仁化学）20 μM 、0.01% Pluronic F-127（BASF）を溶解した physiological salt solution (normal PSS) に標本を浸し、暗所、恒温槽内（約 37°C）にて約 3 時間振

盪した。Normal PSS の組成は 140mM NaCl, 4.7mM KCl, 2.5mM CaCl_2 , 2.5mM MgCl_2 , 11.1 mM glucose, 3.0mM 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine-ethane sulfonic acid (HEPES, 同仁化学) とした。

2. 測定方法

Fura-2 / AM を負荷した標本を細胞内カルシウムイオン濃度測定装置（CAF-100, 日本分光社製）の恒温槽内（容量 0.4ml）に設定し、静止張力 1.0 g を負荷し normal PSS を 30 分間灌流した。

収縮張力および $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の同時測定は Mori ら⁷⁾、佐藤ら⁸⁾、佐藤⁹⁾の方法によった。すなわち収縮張力の測定については、標本を細胞内カルシウムイオン濃度測定装置の恒温槽内に、一端をマニピレータ（M-152, ナリシゲ）に固定し、他端をタングステンワイヤーを介して張力トランスデューサー（UL-2 GR, ミネベア）に固定し、圧増幅ユニット（N4438, 日本電気三栄）を介してレコーダー（RT, 2108R, 日本電気三栄）にて記録した。これと同時に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ については、細胞内カルシウムイオン測定装置内のキセノンランプから発する励起光を、340nm と 380nm のバンドパスフィルター付き回転盤を介して標本に照射することにより二波長励起を行った。それにより標本組織から発する蛍光を 500nm のフィルターを介して光電子倍增管に導き、340nm と 380nm 励起蛍光強度を測定し、その蛍光強度比 (340nm/380nm) をもって、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の指標とした⁷⁻¹⁰⁾。

(1) 各標本の基準値の測定

実験の開始時に全ての標本に対して、まず 90 mM KCl 溶液を 15 分間灌流し、それによって生じた等尺性収縮張力および蛍光強度比の最大変化値を測定し、各々の標本における基準値 (100%) とした。

なお、90mM KCl 投与（和光純薬）溶液は、normal PSS の NaCl と KCl を等モル量置換して作成した。

(2) 各種濃度のリドカインが脱分極刺激薬 90mM KCl による収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼ

す影響

基準値を測定後、約30～35分間 normal PSS を灌流し、等尺性収縮張力および蛍光強度比が 90mM KCl 投与前値にほぼ復するのを待って、 $0.74 \times 10^{-3} \text{M}$ (0.02%), $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ (0.027%), $1.8 \times 10^{-3} \text{M}$ (0.05%), $7.4 \times 10^{-3} \text{M}$ (0.2%) の各濃度のリドカイン投与を各々開始し、その5分後から90mM KCl を15分間投与した。

(3)各種濃度のリドカインがアドレナリンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響

基準値を測定後、約30～35分間 normal PSS を灌流したのち、 $2 \times 10^{-5} \text{M}$ (1:200,000) アドレナリンを投与し、コントロール群とした。次に、基準値を測定後、同様に $0.74 \times 10^{-3} \text{M}$, $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$, $1.8 \times 10^{-3} \text{M}$, $7.4 \times 10^{-3} \text{M}$ の各濃度のリドカイン投与を各々開始し、5分灌流した後、 $2 \times 10^{-5} \text{M}$ アドレナリンを投与した。

(4)細胞内 Ca^{2+} プールを枯渇した状態で、リドカインがアドレナリンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化に及ぼす影響

コントロール群として基準値を測定後、normal PSS を約30～35分間灌流したのち、1 mM EGTA を含有した Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ、さらに $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェインを5分間投与し、続いて $3 \times 10^{-5} \text{M}$ リアノジンを5分間投与した。さらに同様に $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェインを2回、各5分間づつ投与し、続いて $2 \times 10^{-5} \text{M}$ アドレナリンを投与し、その際の収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を測定、記録した。

次にコントロール群と同様に基準値を測定し、さらに normal PSS を灌流後、1 mM EGTA を含有した Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェイン、 $3 \times 10^{-5} \text{M}$ リアノジンを各5分間づつ灌流し、さらに $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェインを2回繰り返して投与した。その後、 $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ リドカインを投与しつつ $2 \times 10^{-5} \text{M}$ アドレナリンを投与し、その際の収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を測定、記録した。

(5)細胞外液に Ca^{2+} が存在しない状態で、リドカインがアドレナリンによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化に及ぼす影響

基準値を測定後、normal PSS を約30～35分間灌流したのち、さらに 1 mM EGTA 含有 Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ10分後に $2 \times 10^{-5} \text{M}$ アドレナリンを投与した。これを本実験のコントロール群とした。次にコントロール群と同様に基準値を測定後、normal PSS を灌流、1 mM EGTA 含有 Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ5分後から $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ リドカインを投与し、さらに5分後に $2 \times 10^{-5} \text{M}$ アドレナリンを投与した。なお Ca^{2+} -free PSS の組成は normal PSS の組成より 2.5mM CaCl_2 を除き、2.0mM 0, 0, -Bis (2-aminoethyl) ethyleneglycol- N, N, N'-N'-tetra acetic acid (EGTA, 同仁科学) を加えたものとした。

(6)細胞外液に Ca^{2+} が存在しない状態で、リドカインがカフェインによる収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 変化に及ぼす影響

基準値を測定後、normal PSS を約30～35分間灌流したのち、さらに 1 mM EGTA 含有 Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ10分後に $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェインを5分間投与した。これを本実験のコントロール群とした。次にコントロール群と同様に基準値を測定後、normal PSS を灌流し、続いて 1 mM EGTA 含有 Ca^{2+} -free PSS を灌流しつつ5分後から $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ リドカインを投与し、さらに5分後に $2.5 \times 10^{-2} \text{M}$ カフェインを投与した。

3. 統計処理

統計処理には、それぞれの値について正規性の検定、異常データの検出(廃棄検定)、等分散検定ののち、平均値の有意差の検定(F検定)を行い、危険率5%未満を有意差有りとした。

結 果

1. 各種濃度のリドカインが KCl による収縮張力と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響 (Fig. 1, 2)

90mM KCl 投与に先立ち、 $1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ リドカインを投与したが、収縮張力、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に変化は見られなかった (Fig. 1)。またリドカイン投与中に90mM KCl を投与すると収縮張力、

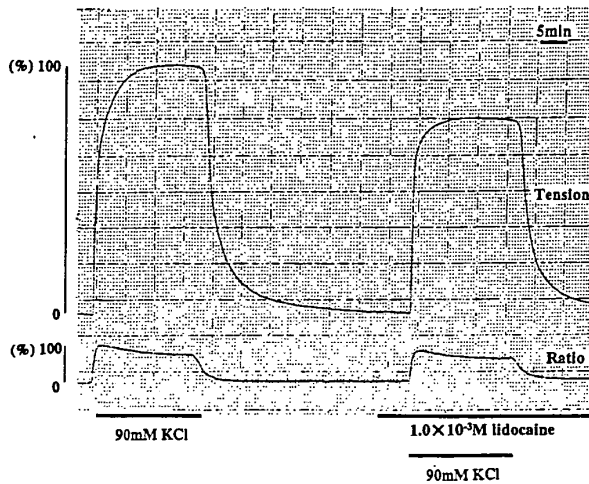


Fig. 1. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by 90 mM KCl. Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ depressed the increase in tension and fluorescence ratio by 90mM KCl.

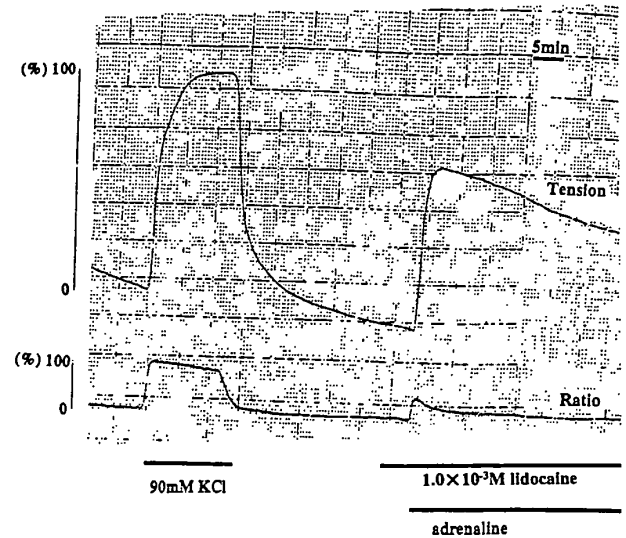


Fig. 3. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by $2 \times 10^{-5} M$ adrenaline. Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ depressed the increase of tension and fluorescence ratio by $2 \times 10^{-5} M$ adrenaline.

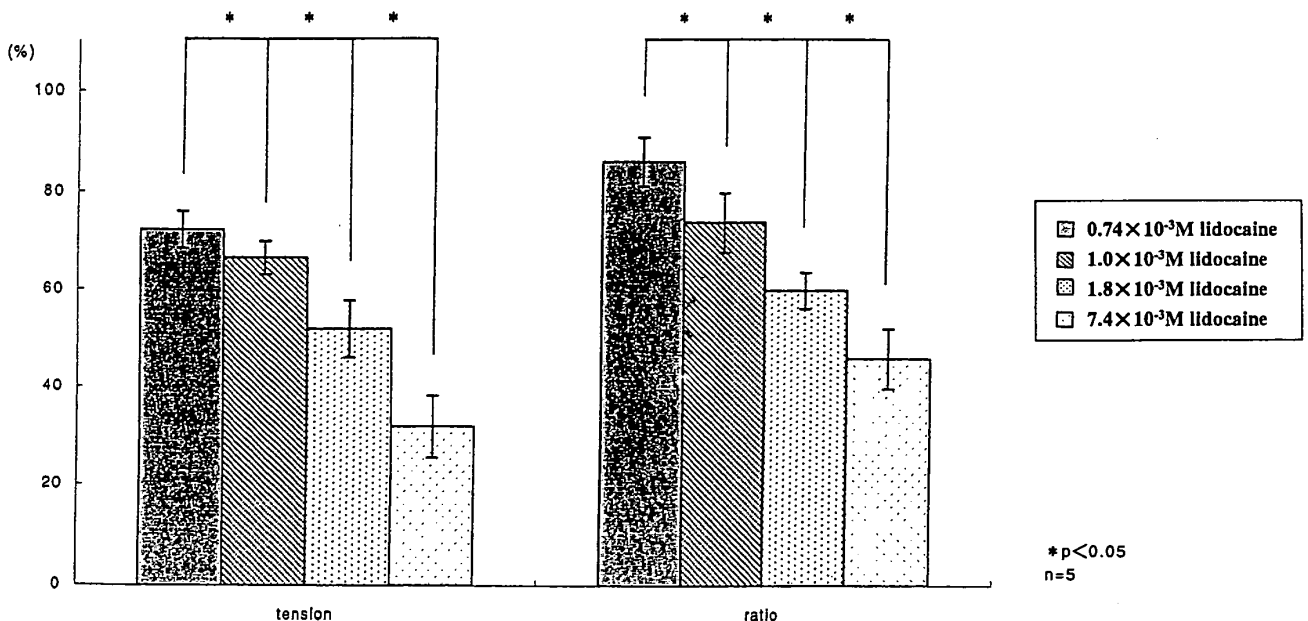


Fig. 2. Effect of the each concentrations of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by 90mM KCl. Lidocaine depressed the increase in tension and $[Ca^{2+}]_i$ by induced by 90mM KCl in a concentration-dependent manner. Data are represented as mean \pm SD. * $p < 0.05$, $n = 5$.

$[Ca^{2+}]_i$ はともに急峻に増加し、投与中はほぼ一定の値で維持された (Fig. 1)。他の濃度のリドカインを投与した場合も同様の推移をしたものの、90mM KCl による収縮張力、 $[Ca^{2+}]_i$ の最大値はいずれもリドカインの濃度依存性に抑制された (Fig. 2)。

2. 各種濃度のリドカインがアドレナリン刺激による収縮張力と $[Ca^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響 (Fig. 3, 4)

$2 \times 10^{-5} M$ アドレナリン投与に先立ち、 $1.0 \times 10^{-3} M$ リドカインを投与したが、収縮張力、 $[Ca^{2+}]_i$ に変化は見られなかった (Fig. 3)。

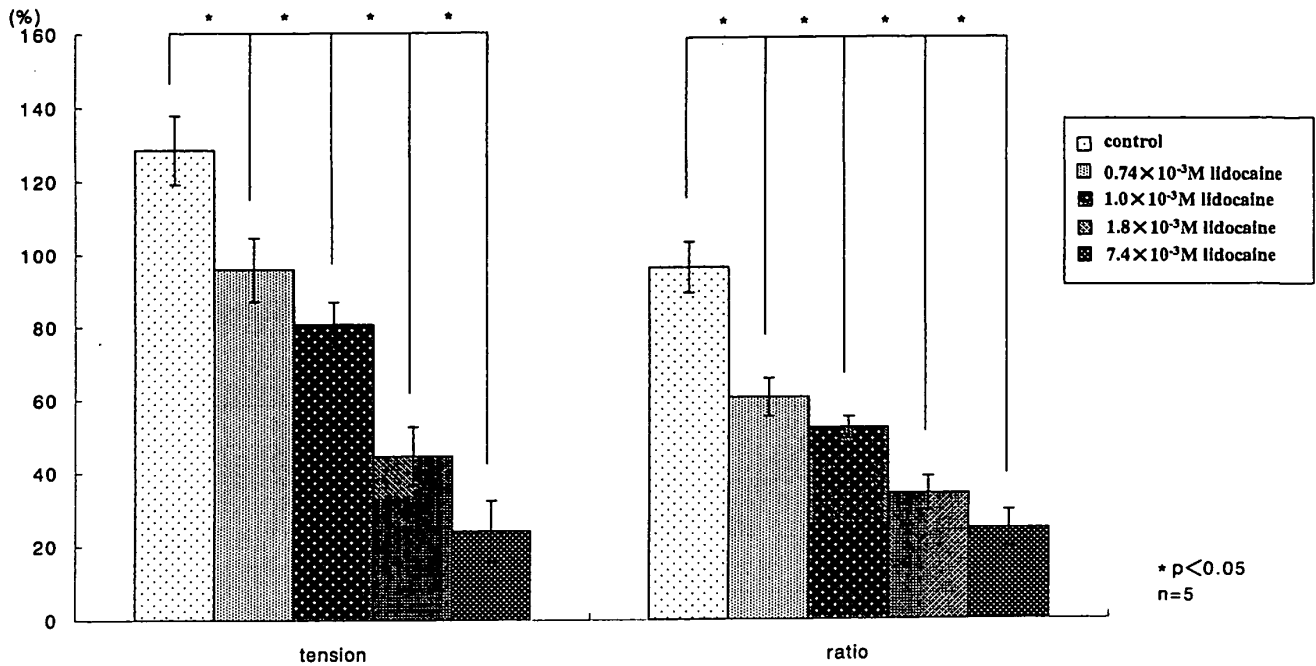


Fig. 4. Effect of the each concentrations of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by 2×10^{-5} M adrenaline.

Lidocaine depressed the increase of tension and $[Ca^{2+}]_i$ by induced by 2×10^{-5} M adrenaline in a concentration-dependent manner.

Data are represented as mean \pm SD.

1.0×10^{-3} M リドカイン投与中に 2×10^{-5} M アドレナリンを投与すると収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の変化は 90 mM KCl よりもさらに急峻に増加し、やがて低下して漸減ないし一定となった (Fig. 3)。各種濃度のリドカインを投与した場合も同様の推移をしたものの、 2×10^{-5} M アドレナリンによる収縮張力、 $[Ca^{2+}]_i$ の最大値はいずれもリドカインの濃度依存性に抑制された (Fig. 4)。

3. 細胞内 Ca^{2+} プールを枯渇した状態で、リドカインがアドレナリンによる収縮張力と $[Ca^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響 (Fig. 5, 6)

Ca^{2+} -free PSS 灌流中に 2.5×10^{-2} M カフェインを投与すると一過性に収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ が急峻に増加した。さらにリアノジンで CICR チャネルを開口固定し、さらにカフェインを投与しても収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は共に変化が見られず、細胞内の Ca^{2+} プールが枯渇されたことが確認できた。この状態で、 2×10^{-5} M アドレナリンを投与すると収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は緩徐に増加し、さらに徐々に減少ないしほぼ一定の値で推移した (Fig. 5-A)。

また、同条件下での 1.0×10^{-3} M リドカイン投与により、 2×10^{-5} M アドレナリンによる収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は同様な変化を示すものの (Fig. 5-B), その最大値は有意に抑制された (Fig. 6)。

4. 細胞外液に Ca^{2+} が存在しない状態で、リドカインがアドレナリンによる収縮張力と $[Ca^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響 (Fig. 7, 8)

Ca^{2+} が細胞内 Ca^{2+} プールには存在するものの細胞外液に存在しない状態では、 2×10^{-5} M アドレナリン投与により収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は一過性に増加し、その後は速やかに減少した (Fig. 7-A)。また、 1.0×10^{-3} M リドカイン投与中でも、 Ca^{2+} -free PSS 中での 2×10^{-5} M アドレナリン投与による収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は同様な変化が見られたが (Fig. 7-B), その最大値は有意に抑制された (Fig. 8)。

5. 細胞外液に Ca^{2+} が存在しない状態で、リドカインがカフェインによる収縮張力と $[Ca^{2+}]_i$ の変化に及ぼす影響 (Fig. 9, 10)

Ca^{2+} が細胞内 Ca^{2+} プールには存在するも

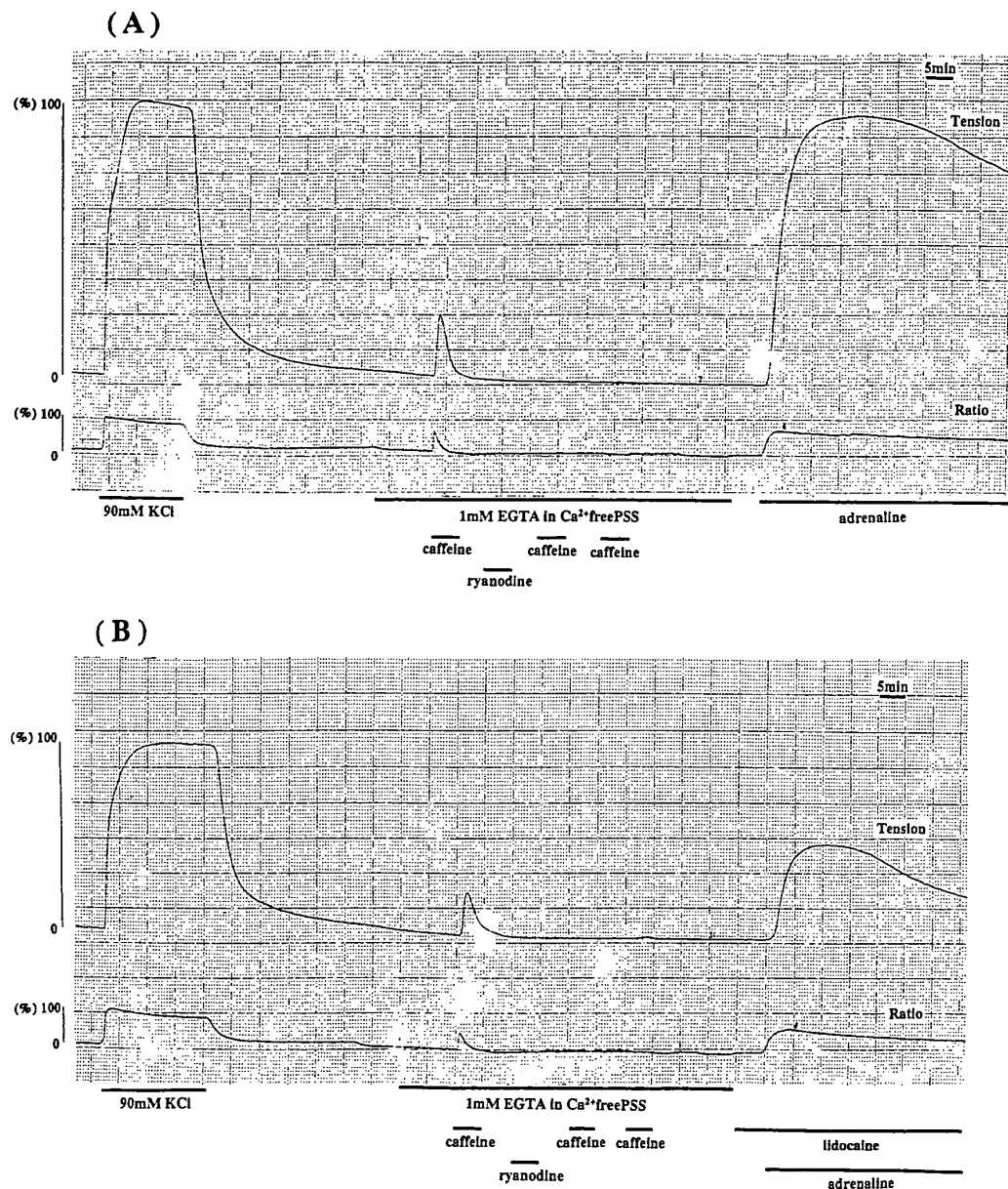


Fig. 5. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by adrenaline in normal physiological salt solution after depletion of caffeine-sensitive Ca^{2+} store and extracellular Ca^{2+} .

A : Adrenaline at $2 \times 10^{-5}M$ rapidly increased the tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$), and then it sustained or gradually decreased levels of them.

B : Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3}M$ depressed the increase in contraction and $[Ca^{2+}]_i$ induced by $2 \times 10^{-5}M$ adrenaline.

の細胞外液に存在しない状態では、 $2.5 \times 10^{-2}M$ カフェイン投与により収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は一過性に増加し、その後は速やかに減少した (Fig. 9-A)。また、リドカインは、このような Ca^{2+} -free PSS 中での $2.5 \times 10^{-2}M$ カフェインによる収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の変化に影響を与えなかった (Fig. 9-B, 10)。なお、 Ca^{2+} -free PSS 灌流中で KCl 溶液を投与した場合、収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は変化しなかつ

た。

考 察

歯科医療においてリドカインは局所麻酔薬として頻用されており、無痛処置を行う上には不可欠である。リドカインは血管に対して直接的には濃度によって拡張作用もあり収縮作用もあると言われているが^{11, 12)}、一般的な臨床使用濃度では拡張作用があると言われている¹⁾。この

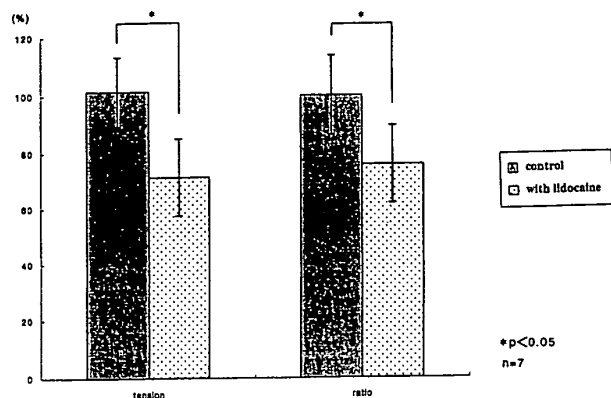


Fig. 6. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by adrenaline in normal physiological salt solution after depletion of caffeine-sensitive Ca^{2+} store and extracellular Ca^{2+} .

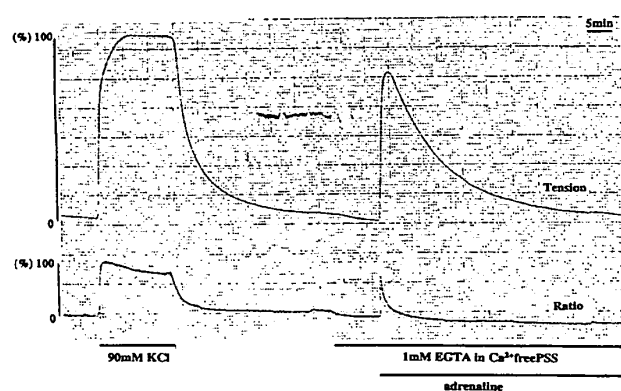
Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ depressed the increase in the tension and $[Ca^{2+}]_i$ induced by $2 \times 10^{-5} M$ adrenaline in normal physiological salt solution after depletion of caffeine-sensitive Ca^{2+} store and extracellular Ca^{2+} .

Data are represented as mean \pm SD.

ため血流の多い口腔領域で使用される歯科用局所麻酔薬には作用の増強や延長，局所麻酔薬中毒の予防などを目的に血管収縮薬としてアドレナリンが含有されている。

我々はこれまでアドレナリンの舌動脈平滑筋への直接作用および作用機序について検討し，報告した²⁾。すなわち，アドレナリンは濃度依存性に舌動脈平滑筋を収縮させるが， $2 \times 10^{-5} M$ アドレナリンで $[Ca^{2+}]_i$ の増加を伴う有効な収縮が得られ，かつ $2 \times 10^{-5} M$ 以上の濃度では有意な相違は見られなかったため，本実験においても受容体刺激薬として $2 \times 10^{-5} M$ (1 : 200,000) アドレナリンを用いた。

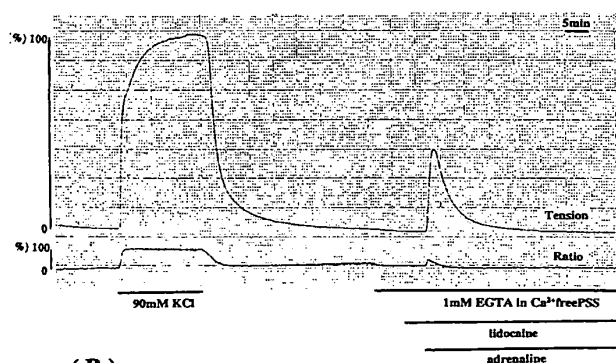
本実験では， $0.74 \times 10^{-3} M$ から $7.4 \times 10^{-3} M$ までの濃度においてリドカインは，KCl およびアドレナリンによる収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に抑制した (Fig. 2, 4)。このことより，リドカインは舌動脈平滑筋における脱分極刺激および受容体刺激のいずれの収縮に対しても抑制作用があることが示唆された。しかし，各濃度のリドカインを単独投与しても，normal PSS 中で安定した標本の収縮張力，



(A)

Fig. 7 Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by adrenaline in the absence of extracellular Ca^{2+} .

A : Adrenaline at $2 \times 10^{-5} M$ transiently increased the tension and fluorescence ratio in Ca^{2+} -free PSS (control).



(B)

B : Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ depressed the maximum increase of tension and fluorescence ratio by $2 \times 10^{-5} M$ adrenaline in Ca^{2+} -free PSS.

$[Ca^{2+}]_i$ に影響を与えなかった (Fig. 1, 3)。すなわち，リドカイン単独では舌動脈平滑筋に対してはなんら直接的な作用を示さなかった。これは $6.8 \times 10^{-3} M$ 以上の高濃度では，ミオシン軽鎖 (MLC) キナーゼを抑制し，直接血管平滑筋を拡張するとの報告^{13, 14)}と異なる結果であったが，組織によっては異なる血管動態を示すこと，本実験の標本では平滑筋の純粋な反応を見るために血管内皮細胞を剥離しているため血管内皮のある血管の動態とは異なることなどが考えられる。いずれにしても本実験結果から $1.0 \times 10^{-3} M$ リドカインであればアドレナリンの収縮を十分に抑制し，かつ試料への為害作用は小さい¹⁵⁾ことなどから本実験においても以後のリド

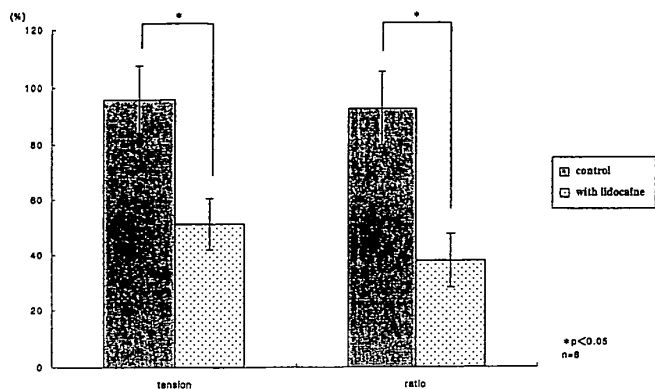


Fig. 8. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by adrenaline in the absence of extracellular Ca^{2+} .

Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ depressed the increase in tension and $[Ca^{2+}]_i$ induced by $2 \times 10^{-5} M$ adrenaline in Ca^{2+} -free PSS.

Data are represented as mean \pm SD.

カインのアドレナリン刺激による収縮を抑制する機序を検討するために $1.0 \times 10^{-3} M$ リドカイン (以下リドカイン) を用いた。

平滑筋の収縮機構において $[Ca^{2+}]_i$ の増減が最も重要な因子となっているが, $[Ca^{2+}]_i$ 増加は, 主として2つの経路を介して達成される。すなわち細胞外 Ca^{2+} の細胞内への流入と細胞内 Ca^{2+} プール (主に筋小胞体; sarcoplasmic reticulum (SR)) から細胞内への Ca^{2+} 放出である。 $[Ca^{2+}]_i$ の増加は, Ca^{2+} -カルモジュリン (CaM) 複合体を形成し, ミオシン軽鎖 (MLC) キナーゼを活性化する。この酵素によりミオシンがリン酸化され, アクチンと反応し平滑筋の収縮が生じる^{6, 16)}。

高濃度 KCl による収縮は, 細胞膜の脱分極により電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (voltage dependent Ca^{2+} channel; VDCC) が開いて細胞外から Ca^{2+} が流入し, さらにこの Ca^{2+} が細胞内 Ca^{2+} プールに存在するリアノジン受容体を活性化して, Ca^{2+} 依存性の Ca^{2+} 放出 (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release; CICR) を引き起こし, $[Ca^{2+}]_i$ が増加する¹⁷⁻¹⁹⁾。本実験では, リドカインは, KCl による刺激により収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ を濃度依存性に抑制した (Fig. 2)。このことでリドカインは VDCC を介する

細胞外 Ca^{2+} の流入ないし CICR を抑制することが示唆された。一方, カフェインは細胞内 Ca^{2+} プール上に存在するリアノジン受容体を活性化し, CICR を促進して収縮を発現すると考えられている¹⁷⁾。本実験で Ca^{2+} -free PSS 中では, リドカインは $2.5 \times 10^{-2} M$ カフェイン (以下カフェイン) による収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の増加に対しては影響を与えなかった。すなわち, 細胞内 Ca^{2+} プールからのカフェインの Ca^{2+} 遊離作用 (CICR) にはリドカインは影響しないことが明らかになった。以上のことより, リドカインが脱分極性刺激による舌動脈血管平滑筋の収縮を抑制する機序は, 細胞内 Ca^{2+} プールからの CICR の抑制ではなく, VDCC を介する細胞外 Ca^{2+} の流入を抑制するためによることが明らかとなった。

一方, アドレナリン, 5-HT, ヒスタミン, カルバコールなどの受容体刺激は, G 蛋白質共役型受容体を活性化して受容体活性化 Ca^{2+} チャンネル (receptor activated Ca^{2+} channel; RACC) を介する細胞外 Ca^{2+} の細胞内への流入を引き起こす²⁰⁾と共に, G 蛋白質を介してホスホリパーゼ C (PLC) を活性化, ホスファチジルイノシトール-1, 4, 5-三リン酸 (IP_3) が産生される。 IP_3 は細胞質内を拡散して細胞内 Ca^{2+} プール上に存在する IP_3 受容体を活性化して Ca^{2+} 放出 (IP_3 -induced Ca^{2+} release; IICR) を引き起こし, $[Ca^{2+}]_i$ を増加させる¹⁷⁾。さらに増加した $[Ca^{2+}]_i$ はリアノジン受容体を活性化させ CICR を引き起こす²¹⁾ばかりでなく, 活性化したリアノジン受容体は VDCC を開き^{22, 23)} 細胞外 Ca^{2+} の流入を惹起する。また, 受容体刺激は, GTP 結合型の Rho による Rho-kinase (RK) の活性化を介して MLC のリン酸化を増加させることによって, $[Ca^{2+}]_i$ が一定でも張力が増加する²⁴⁾など複雑な反応が絡み合って見られる。

本実験で, リドカインはアドレナリンによる収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に抑制したこと, また既に述べたようにリドカインは CICR には影響しなかったことから, リ

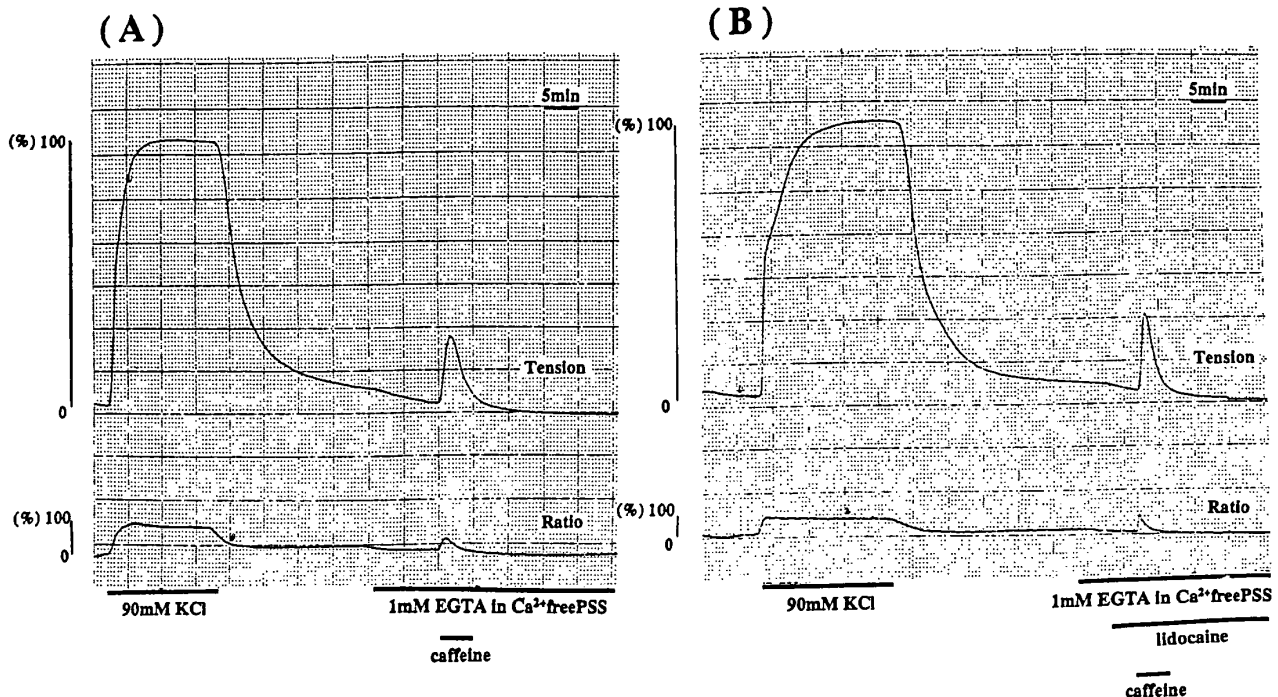


Fig. 9. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by caffeine in the absence of extracellular Ca^{2+} .

A : Caffeine at $2.5 \times 10^{-2} M$ transiently increased the tension and fluorescence ratio induced by $2.5 \times 10^{-2} M$ caffeine (control).

B : Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ did not affect the increase in tension and fluorescence ratio during contraction by $2.5 \times 10^{-2} M$ caffeine.

ドカインは受容体刺激薬による上述の $[Ca^{2+}]_i$ を増加させる過程のうち RACC を介する細胞外 Ca^{2+} の流入及び IICR を減少させることが示唆された。さらに本実験では、細胞外の Ca^{2+} がない (Ca^{2+} -free PSS 灌流) 状態においてもリドカインはアドレナリンによる収縮張力と $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を抑制したことから細胞内 Ca^{2+} プールからの放出を抑制することも確認できた。すなわち IICR を介する $[Ca^{2+}]_i$ の上昇過程を抑制したと考えられる。リドカインが IP_3 の産生を抑制したとの報告¹⁵⁾もあるが、今回の実験では、リドカインが既述した IICR を生じるどの過程で抑制したのかについては検討するまでには至らなかった。

リアノジン感受性細胞内 Ca^{2+} プールと IP_3 感受性細胞内 Ca^{2+} プールは別個に存在しているとの報告²⁵⁾も見られるが、著者ら²⁾は、これまでの研究で細胞外液に Ca^{2+} が存在せず、かつカフェインとリアノジンで細胞内 Ca^{2+} プールを枯渇させた状態ではアドレナリンを投与して

も、収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ は変化しなかったと報告した。これは、リアノジン受容体を開放した状態では IP_3 受容体刺激に至る過程を刺激しても細胞内 Ca^{2+} プールからの Ca^{2+} 放出は生じないことを意味し、両受容体は同一の細胞内 Ca^{2+} プールに関与することを示唆するものである。

結 論

リドカインの血管平滑筋への直接的な影響をみるために、ブタ舌動脈平滑筋を用いて、リドカインがアドレナリンによる血管平滑筋の収縮張力の変化に及ぼす影響を調べた。さらに $[Ca^{2+}]_i$ を同時測定し、その変化を手がかりに、その作用機序についても検討し、以下の結果を得た。

1. リドカインは、脱分極刺激および受容体刺激による収縮張力および $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を濃度依存性に抑制した。

2. 細胞内 Ca^{2+} プールを枯渇した状態でも、

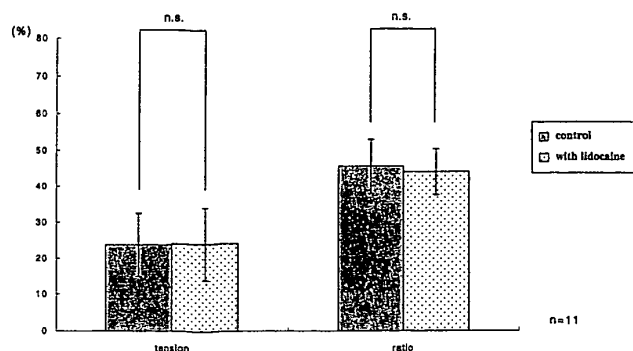


Fig. 10. Effect of lidocaine on tension and fluorescence ratio ($[Ca^{2+}]_i$) induced by caffeine in the absence of extracellular Ca^{2+} .

Lidocaine at $1.0 \times 10^{-3} M$ did not affect the increase in tension and $[Ca^{2+}]_i$ induced by $2.5 \times 10^{-3} M$ caffeine.

Data are represented as mean \pm SD.

リドカインはアドレナリンによる収縮張力, $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を抑制した。

3. 細胞外液に Ca^{2+} が存在しない状態でも, リドカインはアドレナリンによる収縮張力, $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を抑制した。

4. リドカインはカフェイン刺激による CICR を抑制しなかった。

以上の結果より, リドカインは VDCC と RACC を介する細胞外 Ca^{2+} の細胞内流入, 及び IICR を介する $[Ca^{2+}]_i$ の上昇過程を抑制するが, CICR による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇を抑制しないことが示唆された。

謝辞: 稿を終えるにあたり, 終始ご懇篤なる指導と校閲を賜りました城 茂治教授に深甚なる謝意を表します。また, 本研究を進めるにあたりご助言とご協力をいただきました, 佐藤雅仁助教授, 歯科麻酔学講座医局員各位に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨の一部は, 第28, 29, 30回日本歯科麻酔学会総会, 岩手医科大学先進歯科医療研究センター第3回研究成果発表会において発表した。

文 献

- 1) 野口いづみ, 金子 譲: 局所麻酔薬, 血管収縮薬, 古屋英毅, 松浦英夫, 雨宮義弘, 上田 裕, 金子 譲, 海野雅浩 編集: 歯科麻酔学, 第5版, 医歯薬出版, 東京, 173-196, 2001.
- 2) 佐藤健一: ブタ舌動脈血管平滑筋におけるアドレナリン収縮機序の検討, 日歯麻誌, 25: 398-409, 1997.
- 3) Karaki, H., Ozaki, H., Hori, M., Mitui-Saito, M., Amano, K., Harada, K., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Won, K. J., and Sato, K.: Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol. Rev.* 49: 157-230, 1997.
- 4) Morgan, J. P., and Morgan, K. G.: Stimulus-specific patterns of intracellular calcium levels in smooth muscle of ferret portal vein. *J. Physiol.* 351: 155-167, 1984.
- 5) Somlyo, A. P., and Himpens, B.: Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *FASEB J.* 3: 2266-2276, 1989.
- 6) Somlyo, A. P., and Somlyo, A. V.: Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature* 372: 231-236, 1994.
- 7) Mori, T., Yanagisawa, Y., and Taira, N.: Histamine increases vascular tone and intracellular calcium level using both intracellular and extracellular calcium in porcine coronary arteries. *Japan J. Pharmacol.* 52: 263-271, 1990.
- 8) Sato, K., Ozaki, H., and Karaki, H.: Changes in cytosolic calcium level in vascular smooth muscle strips measured simultaneously with contraction using fluorescent calcium indicator Fura-2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 246: 294-300, 1988.
- 9) 佐藤雅仁, 久慈昭慶, 鹿内理香, 佐藤 裕, 佐藤健一, 坂本 望, 城 茂治: ブタ気管支平滑筋の収縮および細胞内 Ca^{2+} 濃度に対するカフェインの作用, 岩医大歯誌, 19: 75-83, 1995.
- 10) 佐藤雅仁: ブタ気管支平滑筋の収縮および細胞内 Ca^{2+} 動態に及ぼすハロセンの影響, 岩医大歯誌, 20: 299-311, 1995.
- 11) Johns, R. A., DiFazio, C. A., and Longnecker, D. E.: Lidocaine Constricts or Dilates Rat Arterioles. *Anesthesiology* 62: 141-144, 1985.
- 12) 黒川 智: ブタ前脊髄動脈に及ぼす局所麻酔薬及びエピネフリンの直接作用, 新潟医学会雑誌, 111: 757-766, 1997.
- 13) Tanaka, T., and Hidaka, H.: Interaction of local anesthetics with calmodulin. *Biochem. Res Commun.* 101: 447-453, 1981.
- 14) Nosaka, S., Kamaya, H., Ueda, I., and Wong, K. C.: Smooth muscle contraction and local anesthetics: Calmodulin-dependent myosin light chain kinase. *Anesth. Analg.* 69: 504-510, 1989.

- 15) Kai, T., Nisimura, H., Kobayasi, S., Takahasi, S., Yoshitake, J., and Kanaide, H. : Effects of Lidocaine on Intracellular Ca^{2+} and Tension in Airway Smooth Muscle. *Anesthesiology* 78 : 954-965, 1993.
- 16) Itoh, T., Kubota, Y., and Kuriyama, H. : Effects of a phorbol ester on acetylcholin-induced Ca^{2+} mobilization and contraction in the porcine coronary artery. *J. Physiol.* 397 : 401-419, 1988.
- 17) van Breemen, C., and Saida, K. : Cellular mechanisms regulating $[\text{Ca}^{2+}]$ i smooth muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 51 : 315-329, 1989.
- 18) 飯野正光 : 細胞内の Ca^{2+} の動的コントロール, 蛋白質 核酸 酵素, 43 : 1534-1538, 1998.
- 19) 古市貞一 : 細胞内 Ca 遊離チャネルの構造・機能とその病態, *Mebio*, 15 : 54-60, 1998.
- 20) Karaki, H., and Weiss, G. B. : Calcium release in smooth muscle. *Life sciences* 42 : 111-122, 1988.
- 21) Berridge, M. J. : Inositol trisphosphate and calcium signaling. *Nature* 361 : 315-325, 1993.
- 22) Chavis, P., Fagni, L., Lansman, B. J., and Bockaert, J. : Functional coupling between ryanodine receptors and L-type calcium channels in neurons. *Nature* 382 : 719-722, 1996.
- 23) 加藤邦夫, 加藤宏司, 御子柴克彦 : 細胞内 Ca^{2+} ホメオスタシスと電気生理学的測定, 蛋白質 核酸 酵素, 43 : 1561-1566, 1998.
- 24) 轟 - 池田奈津子, 最上紀美子, 大村昌人, 吉本裕紀, 松崎益徳, 岡 正朗, 小林 誠 : 平滑筋収縮装置の Ca^{2+} 感受性を増加させる新規の細胞内情報伝達機構, 麻酔, 47 : 530-540, 1998.
- 25) Matumoto, T., Kanaide, H., Shogakiuchi, Y., and Nakamura, M. : Characteristics of the histamine-sensitive calcium store in vascular smooth muscle. *J. Biol. Chem.* 265 : 5610-5616, 1990.